

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 879 604 A1

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:  
25.11.1998 Patentblatt 1998/48

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: A61K 47/48

(21) Anmeldenummer: 97107657.5

(22) Anmeldetag: 09.05.1997

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE DK ES FR GB IT LI NL SE

(71) Anmelder:  
Deutsches Krebsforschungszentrum  
Stiftung des öffentlichen Rechts  
69120 Heidelberg (DE)

(72) Erfinder:  
• Sinn, Hansjörg, Dr.  
69168 Wiesloch (DE)  
• Schrenk, Hans-Herman  
67278 Zeiskam (DE)

• Maier-Borst, Wolfgang, Dr.  
69221 Dossenheim (DE)  
• Frel, Eva, Dr.  
69124 Heidelberg (DE)  
• Stehle, Gerd, Dr.  
69123 Heidelberg (DE)

(74) Vertreter:  
Schüssler, Andrea, Dr.  
Kanzlei Huber & Schüssler  
Truderinger Strasse 246  
81825 München (DE)

(54) **Konjugat, umfassend einen Folsäureantagonisten und einen Träger**

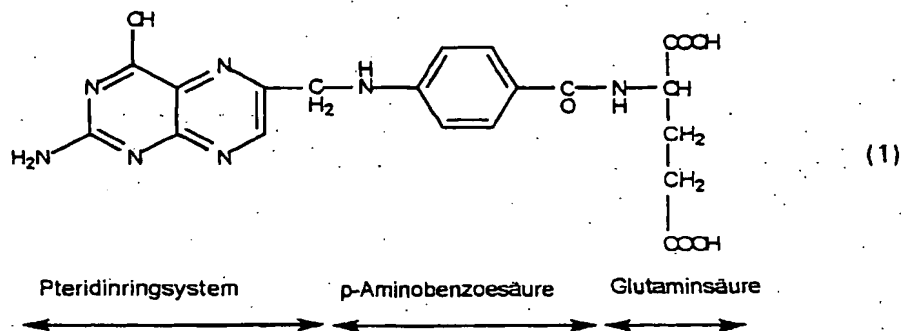
(57) Die Erfindung betrifft Konjugate, umfassend ein D-Enantiomeres eines Folsäureantagonisten und einen Träger. Ferner betrifft die Erfindung die Herstellung solcher Konjugate sowie ihre Verwendung.

EP 0 879 604 A1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Konjugat, umfassend einen Folsäureantagonisten und einen Träger, Verfahren zur Herstellung eines solchen Konjugats sowie dessen Verwendung.

Folsäure ist eine in der Natur vorkommende Verbindung, die in Zellen für den Methylgruppentransfer und somit für das Wachstum von Seen bedeutsam ist. Folsäure weist die nachstehende Formel auf:



Die CH-Gruppe der Glutaminsäure stellt ein asymmetrisches C-Atom dar. Folsäure existiert somit in zwei enantiomeren Formen, nämlich als D- und L-Enantiomere.

Von diesen enantiomeren Formen findet sich aber nur das L-Enantiomere in Zellen, so daß auch nur diese Form, nicht aber das D-Enantiomere, für die Wirkung von Folsäure verantwortlich ist. Der Grund hierfür liegt darin, daß Folsäure über den Folatrezeptor in Zellen aufgenommen wird, dieser aber nur das L-Enantiomere, nicht aber das D-Enantiomere der Folsäure aufnimmt.

Folsäureantagonisten sind Verbindungen, die sich von Folsäure ableiten, dieser aber an ihrem Zielort, nämlich in den Zellen, entgegenwirken. Folsäureantagonisten liegen daher als L-Enantiomere, nicht aber als D-Enantiomere vor. Beispiele von Folsäureantagonisten sind Aminopterin und Amethopterin, das auch mit Methotrexat bezeichnet wird.

Methotrexat, d.h. das L-Enantiomere des Amethopterins, wird häufig zur Behandlung von Tumoren und Entzündungen eingesetzt. Hier haben sich allerdings große Nebenwirkungen gezeigt, da Methotrexat auch von gesundem Gewebe aufgenommen wird und für dieses toxisch ist. Lediglich die DE-A-41 22 210.5 beschreibt Konjugate aus Methotrexat und Albumin, die von Tumoren stärker aufgenommen werden als von gesundem Gewebe und somit weniger toxisch sind. Dennoch besteht ein großer Bedarf nach Mitteln, die noch geringere Nebenwirkungen aufweisen.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein Mittel zur Behandlung erkrankter Gewebe, insbesondere Tumoren, bereitzustellen, das geringste Nebenwirkungen aufweist.

Erfindungsgemäß wird dies durch die Gegenstände in den Patentansprüchen erreicht.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit ein Konjugat, das das D-Enantiomere eines Folsäureantagonisten und einen Träger umfaßt.

Die vorliegende Erfindung beruht auf der Erkenntnis des Anmelders, daß das D-Enantiomere eines Folsäureantagonisten in einem einen Träger aufweisenden Konjugat bevorzugt von erkrankten Geweben, insbesondere Tumorzellen, aufgenommen wird und in diesen eine Wirkung gegen die Erkrankung entfaltet. Ferner hat der Anmelder erkannt, daß das D-Enantiomere eines Folsäureantagonisten alleine, d.h. nicht in einem erfindungsgemäßen Konjugat vorliegend, keine Nebenwirkungen auf gesundes Gewebe hat.

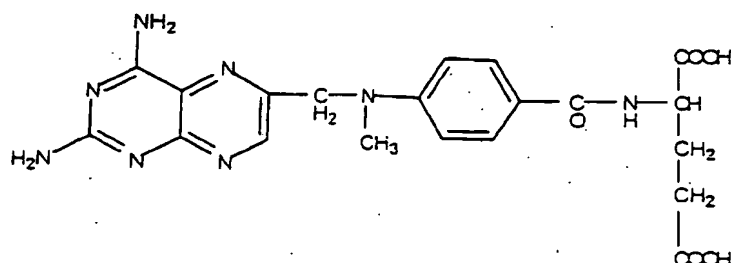
Der Ausdruck "Konjugat" weist darauf hin, daß der Folsäureantagonist und der Träger kovalent verbunden sind, z.B. durch Amid- und/oder Ester-Bindungen bzw. über einen Linker.

Der Ausdruck "D-Enantiomere eines Folsäureantagonisten" umfaßt Verbindungen jeglicher Art, die sich von Folsäure ableiten, als Antagonist von Folsäure wirken und als D-Enantiomere vorliegen. Das D-Enantiomere eines Folsäureantagonisten umfaßt als Komponenten Pteridin, insbesondere Pterin, p-Aminobenzoesäure und eine D-Aminosäure, insbesondere D-Glutaminsäure, die gegenüber den in der Folsäure vorliegenden Komponenten chemisch verändert, d.h. modifiziert, sind. Solche Veränderungen sind z.B. Substitutionen, wie die Substitution von H-Atomen durch C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylgruppen, insbesondere Methylgruppe, Halogenatomen, wie F, Cl, Br, I, OH- und NH<sub>2</sub>-Gruppen, die Substitution von OH-Gruppen durch vorstehende Alkylgruppen, NH<sub>2</sub>-Gruppen, H- und Halogenatome, sowie die Sub-

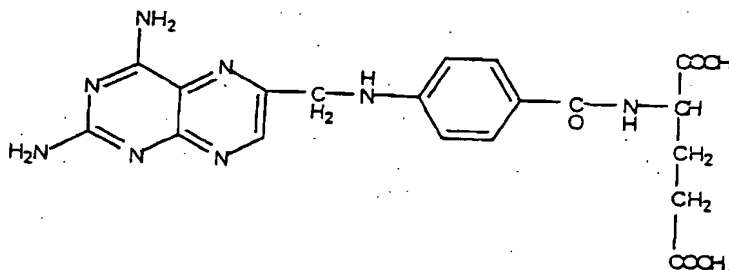
stitution von  $\text{NH}_2$ -Gruppen durch vorstehende Alkylgruppen, OH-Gruppen, H- und Halogenatome. Ferner kann eine oder können beide der Säuregruppen der Glutaminsäure als Säurederivat, z.B. als Ester oder Amid, vorliegen. Von vorstehenden Veränderungen kann eine oder können mehrere in einem erfindungsgemäß verwendeten Folsäureantagonisten vorliegen.

5 Vorzugsweise sind die Folsäureantagonisten D-Aminopterin (im folgenden als D-Methotrexat bezeichnet),

(2),



D-Aminopterin



(3)

und D-e,t-FMTX (ein Methotrexat-Analog, bei dem die Glutaminsäure (Glu) durch D-erythro,threo-4-Fluoro-Glu ausgetauscht ist.

Von den Folsäureantagonisten kann einer oder können mehrere im erfindungsgemäßen Konjugat vorliegen. Liegen mehrere vor, dann können diese gleich oder verschieden voneinander sein.

Der Ausdruck "Träger" umfaßt Verbindungen jeglicher Art, die zur Anreicherung des Konjugats in einem erkrankten Gewebe, z. B. Tumor oder Entzündungsherd, geeignet sind. Beispiele solcher Träger sind Proteine, die nicht als körperfremd angesehen werden, und Polyether.

Die Proteine liegen Vorzugsweise in nativer Form vor. In der nativen Form weisen die Proteine kein inter- und/oder intramolekulares Cross-Linking auf. Günstigerweise besitzen die Proteine ein Molekulargewicht von bis zu 100 000 Dalton, insbesondere 30 000 bis 100 000 Dalton. Ferner ist es günstig, wenn die Proteine humane Proteine sind. Beispiele der Proteine sind Albumin, Fibrinogen, Transferrin, Immunglobuline und Lipoproteine, wobei humanes Albumin bevorzugt ist. Es können auch Fragmente vorstehender Proteine verwendet werden. Ferner kann die Sequenz der Proteine bzw. der Fragmente davon Änderungen von einer oder mehreren Aminosäuren gegenüber der bekannten Sequenz der Proteine bzw. der Fragmente davon aufweisen.

Beispiele der Polyether sind Polyethylenglykole, insbesondere solche mit einem Molekulargewicht von 100 bis 20

000 Dalton. Vorzugsweise sind die Polyethylenglykole an der endständigen Hydroxylgruppe mit einer C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-Alkylgruppe, insbesondere mit einer Methylgruppe, verestert oder verethert.

Ein erfindungsgemäßes Konjugat kann einen oder mehrere, insbesondere zwei, vorstehende Träger aufweisen. Liegen mehrere Träger vor, so können diese gleich oder verschieden voneinander sein. Liegen mehrere Polyether vor, so werden diese günstigerweise so gewählt, daß das Molekulargewicht aller Polyether ca. 20 000 Dalton oder mehr beträgt.

Im erfindungsgemäßen Konjugat kann der Folsäureantagonist mit dem Träger direkt kovalent oder über einen Linker verbunden sein, d.h. zwischen Träger und Folsäureantagonist liegt ein Linker vor. Als Linker sind alle Verbindungen geeignet, die Folsäureantagonist und Träger verbinden können.

Vorzugsweise ist der Linker in einer Zelle spaltbar. Der Ausdruck "Zelle" umfaßt Einzelzellen und Zellverbände. Beispiele ersterer sind körpereigene, nicht in einem Verband vorliegende Zellen. Zellverbände umfassen Gewebe, Organe und Tumoren.

Ein Linker vorstehender Art ist dem Fachmann bekannt. Auch weiß er um Faktoren, z.B. Enzyme, die in Zellen die Spaltung bestimmter chemischer Bindungen bedingen. Somit ist er in der Lage, in einer Zelle spaltbare Linker zu konstruieren. Besonders bevorzugt umfaßt ein solcher Linker eine Azo-Gruppe. Besonders günstig ist es, wenn der Linker folgende Struktur aufweist:



20 worin

R eine organische Gruppe, vorzugsweise eine aromatische, und besonders bevorzugt Phenylen oder ein Derivat davon, ist, und

Y eine aus C(O), S(O)<sub>2</sub>, P(O)OH und As(O)OH ausgewählte Gruppe ist.

25

Vorstehende Struktur eines bevorzugten Linkers entspricht jener, die der Linker in einem erfindungsgemäßen Konjugat aufweist. Ferner umfaßt die Struktur, zumindest wenn R Phenylen oder ein Derivat davon ist, eine aktive Verbindung, die sich besonders für die Therapie von Tumor-, Entzündungs- und Autoimmunerkrankungen eignet. Nach der Spaltung des Linkers und gegebenenfalls Abbau des noch am Linker gebundenen Proteins kann die Verbindung ihre volle Aktivität entfalten.

30

Erfindungsgemäße Konjugate können hergestellt werden, indem der Folsäureantagonist mit dem Träger und ggf. dem Linker kovalent verbunden werden. Hierzu geeignete Verfahren sowie benötigte Materialien sind dem Fachmann bekannt.

Wenn der Folsäureantagonist mindestens eine Carboxyl-Gruppe aufweist, z.B. die durch die Glutaminsäure vorliegende, können die Konjugate hergestellt werden, indem der Folsäureantagonist mit Carbodiimide und Hydroxysuccinimid zu reaktiven Succinimidylestern und diese mit dem Träger umgesetzt werden. Bei Konjugaten mit mehreren Folsäureantagonisten kann die Herstellung der Succinimidylester gemeinsam oder getrennt erfolgen.

35

Die Umsetzung des Folsäureantagonisten mit Carbodiimid und Hydroxysuccinimid erfolgt in einem polaren aprotischen Lösungsmittel, vorzugsweise Dimethylformamid (DMF). Das Mol-Verhältnis von Folsäureantagonist : Carbodiimid : Hydroxysuccinimid beträgt etwa 1 : 1,5 : 10. Der gebildete Succinimidylester wird dann in einer wässrigen Pufferlösung, vorzugsweise NaHCO<sub>3</sub>, mit dem Träger, wie Albumin, umgesetzt. Die Trägerkonzentration beträgt etwa 10 bis 70 mg/ml. Die so aktivierte Carboxyl-Gruppe kann dann unter Ausbildung von Säureamid- oder Säureester-Bindungen mit OH- und NH-Gruppen des Trägers reagieren, wobei erfindungsgemäße Konjugate erhalten werden. Die Konjugate können mehrfach gereinigt werden, z.B. durch Ultrafiltration, und schließlich steril filtriert werden, worauf sie applikationsfertig sind.

45

Erfindungsgemäße Konjugate zeichnen sich dadurch aus, daß sie über eine lange Zeit im Kreislauf des Patienten verbleiben. Ferner reichern sie sich in erkrankten Geweben, insbesondere Tumoren und Entzündungsherden an. Des weiteren zeichnen sie sich dadurch aus, daß sie noch geringere Nebenwirkungen als Konjugate mit L-Folsäureantagonisten, wie sie aus der DE-A-41 22 210.5 bekannt sind, aufweisen, wobei ihre Wirkung gegen erkrankte Gewebe, insbesondere Tumoren und Entzündungsherden erhalten bleibt.

50

Erfindungsgemäße Konjugate eignen sich somit bestens zur Behandlung von Tumoren, wie hämatologische und solide Tumoren, Entzündungen, z.B. Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, wie chronische Polyarthritis, oder Psoriasis, und Autoimmunerkrankungen.

Die vorliegende Erfindung wird durch die Beispiele erläutert.

55

**Beispiel 1: Herstellung eines erfindungsgemäßen Konjugats aus D-Methotrexat und humanem Serumalbumin**

D-Methotrexat (D-MTX) wurde in einer Konzentration von 20 mg/ml in DMF gelöst. Zu der klaren gelben Lösung

wurde die 1,5 fache molare Menge an di-Cyclohexylcarbodiimid und die etwa 10 fache molare Menge an Hydroxysuccinimid gegeben. Nach einer Reaktionszeit von etwa 12 Stunden ist die Reaktion zum Succinimidylester (D-MTX-HSIE) abgeschlossen und an der auskristallisierten Menge von di-Cyclohexyl-Harnstoff (DCH) erkennbar. Die analytische Kontrolle der Reaktion wurde mittels DC durchgeführt.

Platten: Kieselgel 60 mit Fluoreszenzindikator,  
 Laufmittel: Ethylacetat/MeOH : 75/25  
 R<sub>F</sub>-Werte: D-MTX 0,0  
 D-MTX-HSIE 0,35-0,38

Die klare gelbe Lösung von D-MTX-HSIE in DMF wurde unter ständigem Rühren langsam zu der Proteinlösung (50-70 mg humanes Serumalbumin in 0,17 M NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,5) zugegeben, wobei sich nach einiger Zeit eine Trübung, bestehend aus nicht umgesetztem di-Cyclohexylcarbodiimid und noch in DMF gelöstem DCH, bildete. Nach einer Reaktionszeit von mindestens 30 Minuten wurde die Trübung über ein Sterilfilter (0,22 µm) und DMF durch Ultrafiltration mit passendem Membranfilter (YM30; Amicon) abgetrennt.

Die Reinheitskontrolle erfolgte mittels HPLC:

Vorsäule: 50 x 4 mm Zorbax Diol  
 Säulen: 1. Zorbax GF 450  
 2. Zorbax GF 250  
 Laufmittel 0,2 M Phosphatpuffer pH 7,4  
 Fluß: 1,0 ml/min  
 Druck: etwa 65 Bar

Es wurde ein erfindungsgemäßes Konjugat aus D-Methotrexat und humanem Serumalbumin erhalten.

#### Beispiel 2: Vergleich der Toxizität eines erfindungsgemäßen Konjugats aus D-Methotrexat und humanem Serumalbumin mit einem Konjugat aus Methotrexat und humanem Serumalbumin

Für diesen Versuch wurde das erfindungsgemäße Konjugat aus D-Methotrexat und humanem Serumalbumin (D-MTX-HSA) von Beispiel 1 verwendet. Ferner wurde das aus der DE-A-41 22 210.5 bekannte Konjugat aus Methotrexat und humanem Serumalbumin (MTX-HSA) eingesetzt.

Je 5 gesunden Sprague-Dawley Ratten erhielten D-MTX-HSA bzw. MTX-HSA. Es wurden jeweils 4 mg Konjugat (bezogen auf den Anteil an MTX bzw. D-MTX der Konjugate) pro kg Körpergewicht in 2 tägigem Intervall injiziert.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1

Ergebnisse der Ermittlung der Toxizität von MTX-HSA und D-MTX-HSA nach dem 3. Tag						
	Dosis/kg	SE	DU	SF	GV	Tod
MTX-HSA	2 x 4 mg	5	5	5	5	5
D-MTX-HSA	2 x 4 mg	0	0	0	0	0
Abkürzungen: SE: Schleimhautentzündungen; DU: Durchfall; SF: struppiges Fell; GV: Gewichtsverlust						

Wie von Tabelle 1 zu entnehmen ist, litten die Ratten bei der Verabreichung von MTX-HSA bereits ab dem 3. Tag an starken Nebenwirkungen. Am 4. Tag wurden 2 Ratten tot im Käfig aufgefunden. Die anderen 3 Ratten mußten getötet werden, da sie an sehr starken Nebenwirkungen litten. Im Gegensatz dazu wies keine der Ratten, die mit dem erfindungsgemäßen Konjugat D-MTX-HSA behandelt wurden, Nebenwirkungen auf.

Erfindungsgemäße Konjugate besitzen somit geringe Nebenwirkungen.

**Beispiel 3: Tumorthherapie mit einem erfindungsgemäßen Konjugat aus D-Methotrexat und humanem Serumalbumin im Vergleich zu einem Konjugat aus Methotrexat und humanem Serumalbumin**

Für diesen Versuch wurden die in Beispiel 2 angegebenen Konjugate verwendet. Als Versuchstiere wurden Walker-256 Karzinosarkom-tragende Ratten eingesetzt. Therapiebeginn war am 6. Tag nach der Tumortransplantation bei Tumorvolumina von zwischen 1000 und 2500 mm<sup>3</sup> (Tumordurchmesser 1 x 1 bis 1 x 2 cm). Fünf Ratten erhielten MTX-HSA (3 Injektionen in 2 tägigen Abstand mit einer Dosis von 2 mg MTX-HSA (bezogen auf den MTX-Anteil) pro kg Körpergewicht). Das erfindungsgemäße Konjugat D-MTX-HSA wurde in der doppelten Dosis nach vorstehendem Protokoll verabreicht. Bei dieser Dosis traten bei MTX-HSA bereits erhebliche Nebenwirkungen auf, nicht jedoch beim erfindungsgemäßen Konjugat D-MTX-HSA (vgl. Beispiel 2).

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2

Ergebnisse der Tumorthherapie mit dem Konjugat MTX-HSA und dem erfindungsgemäßen Konjugat D-MTX-HSA					
	Dosis/kg	Remission	Rezidiv	NW	Tod
MTX-HSA	3 x 2 mg	3	2	3	2
D-MTX-HSA	3 x 4 mg	5	0	0	0
Abkürzungen: NW: Nebenwirkungen; Tod: Tod durch Tumorrezidiv					

Die Ergebnisse in Tabelle 2 zeigen, daß in der MTX-HSA-Gruppe sich bei 3 Ratten der Tumor zurückbildete (Remission). In dieser Gruppe erlitten 2 Ratten ein Rezidiv und mußten getötet werden. Bei 3 Ratten traten Nebenwirkungen auf. Im Gegensatz dazu zeigte sich, daß bei Ratten, die mit dem erfindungsgemäßen Konjugat D-MTX-HSA behandelt wurden, alle Tiere vom Tumor geheilt wurden und dabei keine Nebenwirkungen beobachtbar waren, obwohl im Vergleich zu MTX-HSA die doppelte Dosis verwendet wurde.

Somit weisen erfindungsgemäße Konjugate geringste Nebenwirkungen auf, wobei mit diesen Konjugaten eine hervorragende Tumorthherapie erzielt werden kann.

**Patentansprüche**

1. Konjugat, umfassend ein D-Enantiomeres eines Folsäureantagonisten und einen Träger.
2. Konjugat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Folsäureantagonist ein oder mehrere Derivate von Pteridin, p-Aminobenzoesäure und einer D-Aminosäure umfaßt.
3. Konjugat nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die D-Aminosäure Glutaminsäure ist.
4. Konjugat nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Folsäureantagonist D-Amethopterin oder D-Aminopterin ist.
5. Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Konjugat mehrere Folsäureantagonisten aufweist.
6. Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger ein nicht als körperfremd angesehenes, natives Protein oder ein Polyether ist.
7. Konjugat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Protein Serumalbumin ist.
8. Konjugat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Polyether ein Polyethylen glykol ist.
9. Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere Träger vorliegen.
10. Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen Folsäureantagonist und Träger ein Linker vorliegt.

**EP 0 879 604 A1**

11. Konjugat nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß der Linker in einer Zelle spaltbar ist.
12. Konjugat nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Linker eine Azo-Gruppe umfaßt.
- 5 13. Verfahren zur Herstellung der Konjugate nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß der Folsäureantagonist, der Träger und ggf. der Linker kovalent verbunden werden.
14. Verwendung der Konjugate nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Behandlung von Tumorerkrankungen, Entzündungen und/oder Autoimmunerkrankungen.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55



Europäisches  
Patentamt

# EUROPÄISCHER TEILRECHERCHENBERICHT

der nach Regel 45 des Europäischen Patent-  
Übereinkommens für das weitere Verfahren als  
europäischer Recherchenbericht gilt

Nummer der Anmeldung

EP 97 10 7657

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Relevanz Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cls.)
P.X	FREI E ET AL: "Cellular uptake and metabolism of methotrexate bound to albumin differs from that of free methotrexate." EIGHTY-EIGHTH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, SAN DIEGO, CALIFORNIA, USA, APRIL 12-16, 1997. PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH ANNUAL MEETING 38 (8). 1997. 432. ISSN: 0197-016X. XP002044230 see p432, #2892	1,5-7, 10-14	A61K47/48
Y	---	1-14	
X	WO 93 15751 A (MERCK & CO INC) 19. August 1993 * Ansprüche 1,6 * ---	1	
	-/--		
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cls.)
			A61K
UNVOLLSTÄNDIGE RECHERCHE			
<p>Die Recherchenabteilung ist der Auffassung, daß ein oder mehrere Ansprüche, den Vorschriften des EPÜ in einem solchen Umfang nicht entspricht bzw. entsprechen, daß eine/n Erfindung/en über den Stand der Technik für diesen Anspruch/e nicht, bzw. nur teilweise, möglich sind.</p> <p>Vollständig recherchierte Patentansprüche:</p> <p>-----</p> <p>Unvollständig recherchierte Patentansprüche:</p> <p>1-14</p> <p>Nicht recherchierte Patentansprüche:</p> <p>-----</p> <p>Grund für die Beschränkung der Recherche:</p> <p>Wegen der grossen Zahl der durch den Anspruchswortlaut definierten Verbindungen wurde die Recherche für den Grundgedanken der Anmeldung und die in der Beschreibung erwähnten Beispiele durchgeführt.</p>			
Recherchenort		Abschlußdatum der Recherche	
DEN HAAG		22. Oktober 1997	
		Prüfer	
		BERTE. M	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN			
<p>X: von besonderer Bedeutung allein betrachtet</p> <p>Y: von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie</p> <p>A: technischer Hintergrund</p> <p>D: nichttechnische Offenbarung</p> <p>P: Zusammenfassung</p> <p>T: der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundgedanken</p> <p>S: dieses Patentschriftstück, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht werden ist</p> <p>D: in der Anmeldung eingeführtes Dokument</p> <p>L: aus anderen Gründen angeführtes Dokument</p> <p>A: Mitglied der gleichen Patentfamilie, übernehmendes Dokument</p>			

EPO FORM 120 (02/92) (Deutsch)





Europäisches  
Patentamt

EUROPÄISCHER  
TEILRECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 97 10 7657

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Incls)
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich der maßgeblichen Teile	Bibliogr. Anspruch	
Y	LEE, WILLIAM W. ET AL: "Folic acid antagonists. Methotrexate analogs containing spurious amino acids. Dichlorohomofolic acid" J. MED. CHEM. (1974), 17(3), 326-30 CODEN: JMCHAR.1974, XP002044231 * Seite 326, Spalte 1 * * Seite 327, Spalte 2, Absatz 3 - Seite 328, Spalte 1, Absatz 1; Tabelle II * * Abbildung 3 *	1-14	
A	WO 85 00812 A (EYLES CHRISTOPHER THOMAS; FAULK WARD PAGE (CH)) * Ansprüche *	1-14	
X	JACKMAN, A.L. ET AL: ".gamma.-linked dipeptide analogs of 2-desamino-2-methyl-N10-propargyl-5,8-dideazafolate as antitumor agents" ADV. EXP. MED. BIOL. (1993), 338(CHEMISTRY AND BIOLOGY OF PTERIDINES AND FOLATES), 579-84 CODEN: AEMBAP; ISSN: 0065-2598, Bd. 338, 1993, Seiten 579-584, XP002044232 * Tabellen 4,5 *	1-3,14	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Incls)
Y		1-14	
D,A	DE 41 22 210 A (DEUTSCHES KREBSFORSCH) * Ansprüche *	1-14	
X	EP 0 251 455 A (CYTOGEN CORP) * Seite 7, Zeile 25 - Seite 8, Zeile 2; Ansprüche * * Seite 14, Zeile 20 - Zeile 30 * * Seite 15, Zeile 10 - Zeile 29 *	1-4,9-14	

EPO FORM 1501 (04/92) (Incls)